

組織再生型心臓弁を指向したシルクフィブロイン複合化材料の開発

*¹東京農工大学大学院工学府生命工学専攻, *²東京農工大学農学部共同獣医学科,

*³徳島大学大学院医歯薬学研究部心臓血管外科分野

田中 咲里*¹, 岩本 脩成*¹, 田中 綾*², 島田 香寿美*², 黒部 裕嗣*³, 中澤 靖元*^{1†}

Emiri TANAKA, Syusei IWAMOTO, Ryo TANAKA, Kazumi SHIMADA, Hirotsugu KUROBE, Yasumoto NAKAZAWA

1. 目的

現在、市販されている人工心臓弁は、すべてが非吸収性の材料を用いており、自己の細胞から弁を再生する「再生弁」の実用化には至っていない。本研究では、生体適合性と穏やかな分解性、物性などの観点から、シルクフィブロイン(SF)を用い、再生弁を指向した材料開発を行っている。

SFは、カイコから生産される繊維タンパク質であり、主に疎水的な繰り返し配列が形成する強固な β シート構造により、高い力学物性を担保している。本研究では、弁膜に必要な柔軟性をSFに付与するとともに、移植後の組織再生を促進させることを目的に、エラスチン(EL)分子のSFへの架橋を試みた。架橋にはクチナシ由来の色素であるゲニピン(Ge)を用いた。Geの架橋点は、リシン(Lys)残基やアルギニン(Arg)残基に存在するアミノ基である。SF分子中のLys残基およびArg残基は末端領域のみに存在することから、 β シート構造を中心とするSFの高次構造を維持したまま、ELを架橋できることが期待される。本研究では、SF基盤再生弁開発の第一段階として、SFとELをGeを用いて架橋したEL架橋SF複合化材料を作製し、柔軟性と細胞接着性の評価を行った。

2. 方法

家蚕絹糸を9 M臭化リチウム溶液に溶解後、透析により脱塩し、SF水溶液を作製した。また、ブタ大動脈由来水性ELを氷冷下でリン酸緩衝液生理食塩水に溶解させ、EL水溶液を作製した。SF:EL = 10:0, 7:3, 5:5, 3:7(質量比)となるように溶液を調製し、Geを0.3% (w/v) 加えた混合溶液を作製した。この溶液をpH7.4, 15°C条件下に

て、24時間架橋反応を行った。反応後、透析により未反応Geを除去し、架橋溶液を得た。架橋溶液のゲル濾過クロマトグラフィーにより架橋反応を確認した。得られた溶液よりキャストフィルムを作製し、37°C, 水中条件下にて引張試験を行った。また、ヒト大動脈平滑筋細胞(HAoSMC)を、フィルム上で24時間、37°C, 5% CO₂の条件下において培養し、DAPI染色により核を染色した後、Image Jを用いて細胞数を計測した。

3. 結果

水中引張試験の結果から、ヤング率はEL反応量の増加に伴った減少傾向を示しており、架橋による柔軟性の向上が示された。HAoSMCによる接着性試験の結果から、SF:EL = 5:5および3:7により作製したフィルムでは、SFフィルム単体と比較してHAoSMCの接着細胞数の有意な増加が認められた。

4. まとめ

再生弁の新規素材として、Geを介したEL架橋SF複合化材料を作製した。得られたEL架橋SF複合化材料は、引張試験による柔軟性、および、細胞試験によるHAoSMCの接着性の向上が示され、再生弁の材料としての物性・細胞機能面での基礎的な知見が得られた。これらの知見を踏まえ、今後さらなる力学的性質と生物学的性質の評価を行い、最適な材料・形態を調整することで、再生弁の開発へと繋げていく。

5. 独創性

SFの物性は、その高次構造に大きく影響を受ける。本研究では、SFの二次構造を考慮した材料設計を行った。Geを用いることにより、SFの二次構造を維持したまま機能性分子であるELを修飾し、再生弁への応用を目指した。

■ 著者連絡先

† 東京農工大学大学院工学府生命工学専攻
(〒184-0012 東京都小金井市中町2-24-16)
E-mail. yasumoto@cc.tuat.ac.jp

本稿のすべての著者には規定されたCOIはない。